

**Der Einfluß von DNS-interkalierenden
Farbstoffen und Röntgenstrahlen auf das
Hamstermelanom A Mel 3**

**Ein experimenteller Beitrag zur Behandlung
des malignen Melanoms**

Hildegard Wolf

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554611_0054

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. O. Braun-Falco

Der Einfluß von DNS - interkalierenden
Farbstoffen und Röntgenstrahlen auf das

Hamstermelanom A Mel 3

Ein experimenteller Beitrag zur Behandlung
des malignen Melanoms

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hildegard Wolf
aus
Oberammergau
1978

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Professor Dr. B.-R. Balda
Korreferent: Professor Dr. O. Braun - Falco
Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14.3.1978



INHALT

1. Einleitung

2. Beschreibung des Gegenstandes

- 2.1. Allgemeines
- 2.2. Aufbau
- 2.3. Funktion
- 2.4. Eigenschaften
- 2.5. Anwendungsbereich
- 2.6. Vorteile
- 2.7. Nachteile
- 2.8. Zusammenfassung

Meiner Mutter gewidmet

- 2.9. Literaturverzeichnis
- 2.10. Quellenverzeichnis

3. Die Herstellung des Gegenstandes

- 3.1. Material
- 3.2. Werkzeuge
- 3.3. Verfahren

4. Ergebnisse und Diskussion

- 4.1. Ergebnisse
- 4.2. Diskussion

5. Zusammenfassung

- 5.1. Zusammenfassung
- 5.2. Ergebnisse
- 5.3. Zusammenfassung der Ergebnisse
- 5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse
- 5.5. Zusammenfassung der Ergebnisse
- 5.6. Zusammenfassung der Ergebnisse

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung
2. Menschliche maligne Melanome
 - 2.1 Ätiopathogenese
 - 2.2 Histogenese
 - 2.3 Lichtmikroskopischer Befund
 - 2.4 Elektronenmikroskopischer Befund
 - 2.5 Diagnostik
 - 2.5.1 Bedeutung der Frühdiagnose
 - 2.5.2 Differentialdiagnose
 - 2.5.3 Klinische Diagnose
 - 2.6 Therapie des malignen Melanoms
3. Das Hamstermelanom A Mel 3 als tierisches Modell des menschlichen malignen Melanoms
 - 3.1 Lichtmikroskopische Befunde
 - 3.2 Elektronenmikroskopische Befunde
 - 3.3 Biochemische Befunde
4. Zielsetzung und Grundlagen der Experimente
 - 4.1 Proflavin
 - 4.2 Ethidiumbromid
5. Experimenteller Teil
 - 5.1 Material und Methoden
 - 5.2 Ergebnisse
 - 5.2.1 Kombinationsbehandlung mit Proflavin und Bestrahlung
 - 5.2.2 Kombinationsbehandlung mit Ethidiumbromid und Bestrahlung
 - 5.2.3 Alleinige Röntgentherapie
 - 5.2.4 Vergleich der einzelnen Versuchsreihen

5.2.4.1 Tumorgrößen

5.2.4.2 Lebensdauer

5.2.5 Vergleich der alleinigen Strahlentherapie mit der Kombinationsmethode und der reinen Chemotherapie

6. Diskussion

7. Zusammenfassung

8. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Nur etwa 1 - 3 % aller bösartigen Tumoren des Menschen sind maligne Melanome (69). Trotz dieser relativen Seltenheit sind sie auf Grund ihrer schlechten therapeutischen Beeinflußbarkeit sehr gefürchtet. Symptomarmut im Anfangsstadium und frühzeitig einsetzende Metastasierung auf dem Blut- und Lymphweg ermöglichen einen unberechenbaren und bösartigen Verlauf der Erkrankung.

Die differentialdiagnostische Abgrenzung bereitet selbst dem Erfahrenen Schwierigkeiten, so z.B. gegenüber entzündlich veränderten aktiven Naevuszellnaevi vom Grenzflächentyp, juvenilen Melanomen (Allen-Spitz) oder Melanosis circumscripta praecancerosa (Dubreuilh). Auch histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen helfen nicht immer über diese diagnostischen Schwierigkeiten hinweg.

Völlig offen ist, selbst bei sehr kleinen Primärtumoren, die Frage, was in Bezug auf lymphogene oder hämatogene Metastasierung bereits geschehen ist, noch bevor therapeutische Maßnahmen eingeleitet werden, wieweit also das Schicksal des Patienten schon vor dem Eingreifen des Arztes festgelegt ist.

Histogenese, makroskopische und mikroskopische Anatomie sowie Stoffwechseldaten waren und sind deshalb Gegenstand umfangreicher Untersuchungen, um Ansatzpunkte für neue Wege in der nach wie vor unvollkommenen Therapie des malignen Melanoms zu finden.

2. Menschliche maligne Melanome

2.1 Ätiopathogenese

Sinner (74) versuchte anhand eines Krankengutes von 132 Melanompatienten Aufschluß über Pathogenese und Ätiologie des menschlichen malignen Melanoms zu erlangen.

Anamnestische Erhebungen ergaben keine Hinweise über weitere Melanome in den Familien der Patienten, so daß für die Heredität des Tumors keine ausreichenden Anhaltspunkte gesammelt werden konnten. 51 Patienten (38,6 %) wußten von einem am Ort des jetzigen Tumors von Jugend auf bestehenden Pigmentnaevus, 37 Patienten (28 %) gaben an, in den letzten 2 - 3 Jahren vor der ärztlichen Konsultation ein Wachstum dieser Naevi beobachtet zu haben. 85 Patienten (64,3 %) bemerkten keine vorher am Ort des späteren Melanoms bestehende Veränderung.

Nach den Untersuchungen von Sinner entstehen 50 % aller menschlichen malignen Melanome aus Pigmentnaevi, 25 - 30 % auf dem Boden einer melanotischen Präkanzerose und etwa 20 - 25 % auf unveränderter Haut. Miescher (50) kommt in seinen Erhebungen zu einem ähnlichen Ergebnis (37 % aus Pigmentnaevi, 33 % aus melanotischen Präkanzerosen und 33 % auf unveränderter Haut). Balda (5) fand, daß 27 % der malignen Melanome an Stellen, deren früherer Hautbefund unbekannt oder unklar war, entstanden waren. Nur 5 % der Patienten konnte mit Sicherheit vorher unveränderte Haut angeben.

Das Entstehen menschlicher maligner Melanome wird auch mit hormonellen Einflüssen in Verbindung gebracht. Sowohl die Altersverteilung als auch eine gewisse Parallelität in der Häufigkeit des Auftretens zu "hormonaktiven" Lebensphasen (Pubertät, Schwangerschaft) wie auch geschlechtsspezifische Unterschiede stützen diese Vermutung.

Sinners Untersuchungen (74) legen die Möglichkeit eines Zusammenhanges

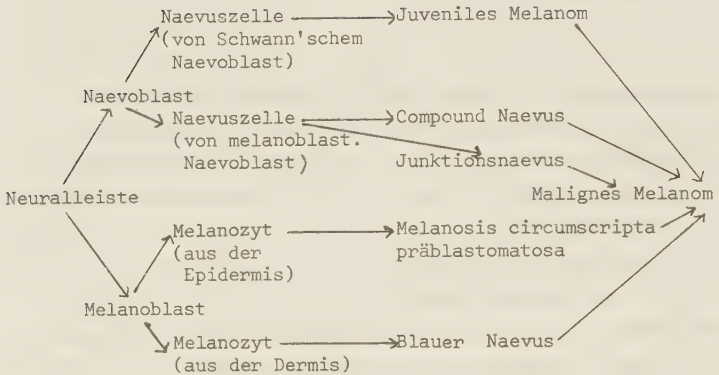
zwischen der Umwandlung eines Naevus in ein malignes Melanom und einer Traumatisierung nahe. In 29,5 % der von ihm untersuchten Fälle wurden anamnestisch Traumen als Grund für eine Transformation eruiert, in 16,6 % der Fälle konnte eine iatrogene diagnostische Traumatisierung nachgewiesen werden, die Häufigkeit provozierter Makrotraumatisierung wurde mit 15,9 % angegeben, und in 52,3 % aller Fälle war schließlich eine unsachgemäße Therapie, wie z.B. Ätzen des Tumors oder Inzision der Anlaß für die Umwandlung in einen malignen Tumor.

Diese Auffassung ist heute dahingehend korrigiert worden, daß nur noch chronische Traumen als transformationsbegünstigend akzeptiert werden (20).

2.2 Histogenese

Nicht unbestritten ist die Vorstellung von Mishima (51), wonach aus histogenetischer Sicht zwei Melanomtypen vorkommen sollen. Mishima nimmt an, daß ein Weg in der Entwicklung vom Melanoblasten über Melanozyten, Lentigo senilis und Morbus Dubreuilh zum melanozytischen Melanom, ein zweiter vom Naevoblasten über Lentigo simplex und Junktionsnaevus zum neuroblastischen Melanom führt. Die erste Art des Melanoms soll vor allem im Kopf-Hals-Gebiet vorkommen, langsam wachsen und auf Grund ihrer Strahlensensibilität prognostisch günstig zu beurteilen sein. Im Gegensatz dazu soll die zweite Art des Melanoms vor allem am Körperstamm lokalisiert sein, rasch wachsen und eine relativ hohe Strahlenresistenz zeigen.

Das nachfolgende Schema gibt die Vorstellungen von Mishima wieder:



2.3 Lichtmikroskopischer Befund

Nach lichtmikroskopischen Untersuchungen (39, 42) lassen sich bei menschlichen malignen Melanomen vor allem zwei Zelltypen unterscheiden:

- a) Runde, kugelige Zellen, die oft in Nestern alveolär gelagert und von schmalen Bindegewebssepten umgeben sind. Sie weisen erhebliche Polymorphie bis zur Bildung ein- und mehrkerniger Riesenzellen auf und können lebhaft Proliferation zeigen.
- b) Lang- und kurzspindelige Zellen, die oft gebündelt und fischzugartig oder in Wirbeln angeordnet sind.

Beide Zelltypen und -formationen können oft in unterschiedlichem Maße gemischt in ein- und demselben Tumor angetroffen werden. Von 200 malignen Melanomen waren 47 % rein globuzellär, 7 % rein fusiform, der Rest gehörte dem gemischten Typ an. (42)

2.4 Elektronenmikroskopischer Befund

Auch elektronenmikroskopisch (5,75) ist eine sowohl die Zellen als auch die Kerne betreffende Polymorphie auffällig. Letztere imponieren durch feinretikuläre Chromatinstrukturen, sind kompakt und enthalten ein bis zwei feingranuläre Nukleolen mit mehreren vakuolenartigen Aufhellungen. Die Cristaereichen, teils länglichen, teils runden Mitochondrien sind meist zu Komplexen zusammengelagert. Im endoplasmatischen Retikulum finden sich auch lamelläre und vesikuläre Strukturen, jedoch kaum Ergastoplasma. Ribosomen kommen freiliegend und membrangebunden vor. Die rundlich - ovalären Melanosomen sind nach Zahl und Größe inkonstant. In den meisten malignen Melanomen können daneben noch Zellen beobachtet werden, die außer einzelnen melaninhaltigen Elementargranula im Zytoplasma zahlreiche scharf begrenzte Melaninkomplexe enthalten, in denen außer feingranulärer Substanz einzelne Melanosomen unterschieden werden können, die sogenannten Compound-Melanosomen (42) polymorphzelliger Melanome.

2.5 Diagnostik

2.5.1 Bedeutung der Frühdiagnose

Zur Therapie und Prognose menschlicher maligner Melanome sind Frühdiagnose und -behandlung von entscheidender Bedeutung. Diese Tatsache wird durch Untersuchungen von Storck (77) verdeutlicht, wonach die 5-Jahres-Überlebensrate für Melanome mit bereits erkennbarer Organmetastasierung 0 %, für Tumoren ohne Organmetastasen, aber mit Lymphknotenbefall 31 %, für Melanome ohne Organ- und Lymphknotenmetastasen 51 %, für reine Präkanzerosen 78 % beträgt.

Rohde und Wiskemann (67) machten für den letalen Ausgang zahlreicher behandelter Melanompatienten weniger eine Metastasierung aus dem Primärtumor nach dessen Behandlung als vielmehr eine zum Zeitpunkt des Therapiebeginns schon angelegte, aber noch nicht zu erkennende, also

symptomlose Metastasierung verantwortlich. Diese sehr frühzeitig erfolgende Meastasierung unter Bevorzugung von Lymphknoten (95 %) Leber (52 %), Nieren (50 %) und Herz (38 %) gestalten, wie bereits eingangs erwähnt, die Frühdiagnose und somit auch die Therapie maligner Melanome so problematisch.

2.5.2 Differentialdiagnose

Nach Gartmann (34) existieren über 70 verschiedene melanotische Hautveränderungen. Für praktische Zwecke kommt allerdings davon nur eine kleinere Zahl für die Differentialdiagnose maligner Melanome in Betracht. Es sind dies nach Balda (5):

1. Pigmentierte melanozytische oder naevozytische Veränderungen (z.B. pigmentierter Naevuszellnaevus, benignes juveniles Melanom, Blauer Naevus).
2. Epitheliale Veränderungen (z.B. Verruca seborrhoeica senilis, pigmentiertes Basaliom, Keratoakanthom, Lichen ruber obtusus).
3. Vaskuläre Veränderungen (z.B. thrombosiertes oder sklerosiertes Hämangiom, Angiokeratom, Glomustumor).
4. Dermale Veränderungen (z.B. Mastozytom, Neurofibrom, pigmentiertes Histiozytom).

Diese Vielzahl der differentialdiagnostischen Möglichkeiten macht auch die bei 20 - 30 % liegende und somit relativ hohe Quote an klinischen Fehldiagnosen (5) verständlich.

2.5.3 Klinische Diagnose

Die dermatologischerseits bekannten Verdachtsmomente für das Vorliegen eines malignen Melanoms wurden von Hellriegel (38) zusammengestellt:

1. Spontanes Entstehen eines "braunen Hauttumors" im höheren Lebensalter.
2. Hofförmige Entzündung der Basis oder der weiteren Umgebung eines "braunen Tumors".
3. Rasche Größenzunahme eines "braunen Tumors".
4. Blutung und Ulzeration eines "braunen Tumors".
5. Plötzliches Wachstum eines bestehenden Naevuszellnaevus, besonders im höheren Alter.
6. Entzündung eines Naevuszellnaevus oder dessen Umgebung.
7. Entwicklung eines nicht pigmentierten Tumors an einer Stelle, an der früher ein "brauner Fleck" bestand.

Klinisch werden drei Tumorstadien wie auch bei anderen Neoplasien unterschieden (80):

1. Stadium I: Primärtumor
2. Stadium II: Primärtumor mit Lymphknotenbefall
3. Stadium III: Primärtumor mit Lymphknotenbefall und Organmetastasen.

Eine wesentliche Bereicherung für das Verständnis der Biologie und die Diagnostik des malignen Melanoms stellen die Arbeiten von Clark jun. (22, 23) dar. Er versuchte, die verschiedenen Typen des menschlichen malignen Melanoms auf Grund ihrer charakteristischen zeitlichen Entwicklung, ihres typischen klinischen Bildes und ihrer kennzeichnenden histopathologischen und ultrastrukturellen Besonderheiten zu klassifizieren. Danach lassen sich grundsätzlich drei Melanomtypen unterscheiden:

a) Das Lentigo - maligna - Melanom

Es entwickelt sich aus einer Melanosis circumscripta präcancerosa Dubreuilh besonders im höheren Lebensalter, vor allem bei Frauen und bevorzugt an lichtexponierten Stellen. Die Anamnese geht hier über Jahre, oft Jahrzehnte. Erst nach dieser Zeit zeigen sich inner-

halb der früheren Hautveränderungen teils schwärzliche, teils auch helle Infiltrate, die sich zu Knötchen auswachsen.

b) Das superfiziell spreitende Melanom

Diese Form tritt vor allem im mittleren Lebensalter auf, be-
fällt bevorzugt den Rumpf und zeichnet sich durch eine kürze-
re Anamnese als das Lentigo - maligna - Melanom aus. Klinisch
imponieren runde, scharf begrenzte Herde mit zungenförmigen Aus-
läufern, erhabenem Rand und farblicher Scheckung.

c) Das primär knotige Melanom

Es hat die kürzeste Entwicklungszeit aller Melanome, der Alters-
gipfel liegt bei 40 - 50jährigen. Die Knoten haben eine platte,
zuweilen auch papillomatöse oder verrucöse Oberfläche. Die Far-
be ist meist einheitlich.

Histologisch werden jeweils fünf "levels of invasion" unter-
schieden (22):

1. Niveau I: Tumorzellen allein in der Epidermis
2. Niveau II: Tumorzellen durch die Basalmembran bis ins stratum
papillare
3. Niveau III: Tumorzellen bis in die Grenzschicht zwischen stra-
tum papillare und stratum reticulare
4. Niveau IV: Invasion der Tumorzellen bis zwischen die Kollagen-
fasern im stratum reticulare
5. Niveau V: Tumorzellen im subkutanen Gewebe

Die Diagnosesicherung durch Probeexzision ist durch die Gefahr der Aus-
saat von Tumorzellen auf hämatogenem oder lymphogenem Weg problematisch
(20). Andererseits könnte durch eine Biopsie wertvolle Zeit für die The-
rapie gewonnen werden. Deshalb ist das frühere absolute Biopsieverbot
heute nicht mehr ganz zu halten. (30,57) Einen Ausweg stellt die Exzi-
sionsbiopsie in Vollnarkose mit Kryostatschnittdiagnose dar, weil nach
Bestätigung der Verdachtsdiagnose sofort weiteroperiert werden kann. (20)

Weitere Aufschlüsse über das Krankheitsgeschehen wurden von der Lymphographie mit radioaktiv markierten Substanzen wie ^{198}Au , ^{131}I und ^{90}Y (13, 29) erhofft. Die Aussagekraft dieser Technik ist jedoch sehr begrenzt.

Die Infrarotspektroskopie (21) von malignen Tumoren erfordert eine histologische Nachkontrolle und ist deshalb für die Melanomdiagnostik nicht geeignet. Auch die Zytodiagnostik (Schmierpräparate der Tumoroberfläche) kann wegen der zu zahlreichen Fehlermöglichkeiten und begrenzten Anwendbarkeit diagnostisch nicht entscheidend weiterhelfen (2).

2.6 Therapie des malignen Melanoms

Die Therapie des malignen Melanoms ist bis heute als unbefriedigend zu bezeichnen, da Alter des Patienten sowie Lokalisation, Größe und klinisches Stadium des menschlichen malignen Melanoms unterschiedlich bewertet werden (20,41). Seit den Empfehlungen Pringles (64), Melanome mit Lymphknoten radikal operativ zu entfernen, und später, nach den Erfahrungen von Ravaut und Ferrand (65), daß auch Elektrokoagulation den letalen Ausgang nicht verhindert, oder von Jüngling (40), daß Melanome wenig strahlenempfindlich sein sollen, wurden die verschiedensten therapeutischen Verfahren empfohlen.

Heute ist man sich einig, daß die Therapie der Wahl die Operation ist (20). Dabei wird zunächst die klinische Verdachtsdiagnose histologisch abgesichert. Darauf folgt die großzügige dreidimensionale (möglichst im Abstand von 5 cm im Gesunden) chirurgische Entfernung des Primärtumors, wobei die Muskelfaszie erhalten bleiben soll. Die entstehenden Hautdefekte sollen sofort anschließend durch freie Transplantation oder durch Verschiebeplastik gedeckt werden (20).

Dieses heute weitgehend standardisierte Vorgehen wurde früher zwar gelegentlich in der gleichen Weise durchgeführt, doch bestanden da-

neben noch zahlreiche Modifikationen. So ist nach Sinner (74) die jeweils anzuwendende Art der Therapie abhängig vom Entwicklungsstadium des Melanoms und von seiner Lokalisation am Körper. Für die Kombination von chirurgischem Vorgehen mit Bestrahlungstherapie gibt er folgende Empfehlungen:

A) Bei vorhandenem Primärtumor mit und ohne Lymphknotenmetastasen: Vorbestrahlung des Primärtumors und der regionären Lymphknoten (Dosis 3000r), weiter entweder

1. Monobloc - Operation (Entfernung des Primärtumors und der abführenden Lymphwege sowie der regionären Lymphknoten), wenn der Tumor an Kopf, Nacken oder am proximalen Teil der Extremitäten lokalisiert ist, oder
2. Operation en discontinuité (weite Exzision des Primärtumors, 3-6 Wochen später Ausräumung der regionären Lymphknoten) bei Sitz des Tumors am Körperstamm und am distalen Extremitäten-
teil.

Nachbestrahlung (Dosis 3000r)

B) Bei bereits exzidiertem Primärtumor, histologisch positivem Befund, mit und ohne regionäre Lymphknotenmetastasen:

1. Erweiterte Hautexzision (meist ist in der Folge eine plastische Deckung notwendig)
2. Prophylaktische Nachbestrahlung (Dosis 3000r)
3. Vorbestrahlung der regionären Lymphknoten
4. Nach 4 - 6 Wochen prophylaktische Lymphknotenausräumung, prophylaktische regionäre Nachbestrahlung.
5. Ultraradikale Therapie (z.B. Amputation).

C) Bei bestehenden Fernmetastasen:

Kurative Therapie ist hier nicht mehr möglich, es lassen sich lediglich noch palliative Erfolge erzielen.

1. Palliative Radiotherapie (Ziel: Lebensverlängerung, Schmerzlinderung)

2. Palliative Chirurgie (wird weitgehend abgelehnt, da das Ergebnis meist eine Verstümmelung bedeutet und den Patienten zusätzlich psychisch belastet).

Probleme in der Melanomtherapie bestehen immer dann, wenn bereits erfolgte Metastasierung den Erfolg einer operativen Behandlung in Frage stellt. Hier setzen die Bemühungen mit chemotherapeutischen Möglichkeiten und Strahlenbehandlung in Kombination mit der Operation ein.

Nach beachtenswerten Erfolgen der Chemotherapie bei der Behandlung von Leukämien, malignen Lymphomen und anderen bösartigen Tumoren haben sich in den letzten Jahren auch Möglichkeiten für die chemotherapeutische Beeinflussung des malignen Melanoms ergeben. Zytostatika kommen für die Therapie des malignen Melanoms nur bei bereits vorhandenen Metastasen (Stadium III) in Betracht, in früheren Stadien sind sie wegen der meist unvermeidbaren Knochenmarkdepression und Störung des immunologischen Abwehrapparates kontraindiziert.

Der Versuch, mittels der durch Ryan, Krementz und Creech (26) eingeführten Isolations-Perfusions-Technik bei der Chemotherapie eine Effizienzsteigerung der Behandlung durch hohe lokale Konzentration des Pharmakons zu erreichen und somit den Organismus zu schonen, hat bisher nur bescheidene Erfolge erbracht.

Direkte und indirekte Hormontherapie schließlich haben nur palliative Bedeutung (29). Der Versuch, maligne Melanome mit zytostatischen Antibiotika und radioaktiven Isotopen zu behandeln, erwies sich als wenig wirksam. Lediglich der intralymphatischen Injektion von ^{198}Au , ^{131}J und ^{90}J kommt eine gewisse Bedeutung auf diagnostischem und therapeutischem Gebiet zu (13).

3. Das Hamstermelanom A Mel 3 als tierisches Modell des menschlichen malignen Melanoms

Bei zahlreichen Tierarten sind Melanome bekannt und als Modell für das menschliche maligne Melanom verwendet worden, wie z.B. das Harding - Passey - Melanom und das Cloudman - S - 91 - Melanom der Maus. Für unsere Versuche als besonders geeignet erwies sich das Fortner-Melanom A Mel 3 (32, 42).

Dieses von Fortner und Allen beschriebene Melanom war primär ein melanotischer, von junctional aktiven Naevuszellen ausgehender spontan entstandener Tumor des Syrischen Goldhamsters. Von 10 Tumoren beobachtete Fortner 2 amelanotische, der Rest war primär melanotisch. Durch abnehmende Melaninbildungsfähigkeit der Tumorzellen im Verlauf mehrerer Tierpassagen erfuhren einige dieser primär melanotischen Tumoren einen Verlust der Pigmentbildungsfähigkeit in Richtung auf einen amelanotischen Tumor. Hierbei war die reduzierte Pigmentbildungsfähigkeit der Tumorzellen gleichbedeutend mit schnellerem Wachstum und histologisch erkennbarer Zunahme der Malignität, was sich vor allem in der verkürzten Lebenszeit äußerte: Für Tiere mit melanotischen Melanomen betrug sie - vom Zeitpunkt des Überimpfens der Tumorzellsuspension aus gerechnet - $66,3 \pm 9,3$ Tage, für Tiere mit amelanotischen Melanomen dagegen nur $38,7 \pm 4,2$ Tage.

Ebenso zeigten sich im Hinblick auf die Metastasierung deutliche Unterschiede: Während sich beim amelanotischen Primärtumor in 95 % der Fälle Lymphknotenmetastasen zeigten und Lungenmetastasen fehlten, traten bei den melanotischen Melanomen nur in 11 % der Fälle Lymphknotenmetastasen auf, während Lungenmetastasen mit 72 % sehr zahlreich waren. Dieses gegenüber dem primär von Fortner beschriebenen melanotischen Tumor unterschiedliche biologische Verhalten war der Hauptgrund für die besondere Eignung des Fortner - Melanoms A Mel 3 für unsere Versuche.

Auch in Mikro- und Ultrastruktur läßt sich dieses Melanom des Syrischen

Goldhamsters gut mit den menschlichen malignen Melanom vergleichen. Histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen erbrachten neben der großen Ähnlichkeit des A Mel 3 mit dem menschlichen malignen Melanom Nachweise für die Existenz virus-artiger Partikel im endoplasmatischen Retikulum und möglicherweise auch in den Mitochondrien (5, 6, 12, 58). Hieraus ergeben sich wieder Parallelen zum menschlichen malignen Melanom: In neuesten Versuchen wurde die Existenz von Oncornavirus-artigen Partikeln im menschlichen malignen Melanom nachgewiesen (12,58).

3.1 Lichtmikroskopische Befunde

Lichtmikroskopisch imponiert das Hamster-Melanom A Mel 3 durch seine eng gepackten, oft läppchenartig angeordneten melaninfreien Zellen, die hinsichtlich der Größe, Form, Dichte und Struktur der Zellkerne wie auch der Zellen selbst außerordentliche Polymorphie zeigen (51, 79). Mitosen mit oft atypischen Mitosefiguren sind häufig anzutreffen. Der Tumor zeigt infiltratives Wachstum in das umgebende Bindegewebe und in die Muskulatur. Die Tumorrandzone weist keine stärkere Stromareaktion auf. Mit zunehmendem Zeitabstand nach der Übertragung treten in den zentralen Tumorgebieten vermehrt umschreibende Nekroseherde auf.

3.2 Elektronenmikroskopische Befunde

Elektronenmikroskopisch (5, 6) sind große, eng aneinanderliegende, gelegentlich miteinander verzahnte und auffällig polymorphe Tumorzellen erkennbar. Schmale Kollagenzüge trennen einzelne Tumorzellgruppen voneinander. Größere Gefäßbindegewebssepten fehlen im Tumor.

Die Form der Zellen ist unregelmäßig polygonal, oft werden auch längere

Zellfortsätze beobachtet. Die Zellkerne sind relativ groß und in ihrer Form stark unterschiedlich - man findet neben ovoiden auch langgestreckte oder bizarr geformte, stark gelappte Kerne mit unregelmäßigen Ein- und Ausstülpungen. Das homogene helle Karyoplasma läßt oft mehrere Nukleolen stark hervortreten. Das Zytoplasma der Tumorzellen zeigt alle Zeichen höchster Stoffwechselaktivität mit auffallend hohem Bestand an Ribosomen. Die Mitochondrien sind ebenfalls außerordentlich zahlreich, zeigen einen hohen Cristaegehalt und sind hinsichtlich der Form sehr variabel. Neben ovoiden Mitochondrien kommen unregelmäßig gelappte, sogar ringförmig geschnittene Formen vor. Sie liegen im allgemeinen in bestimmten paranukleären Arealen aggregiert, wobei sich meist auch in diesem Zellbereich die ausgedehnten Membran- und Zysternensysteme des Golgi-Apparates befinden. Typische Melanosomen bzw. Prämelanosomen oder Zeichen einer Melaninsynthese sind nicht sicher nachweisbar. Meist finden sich auch Bruchstücke der Membransysteme des granulären endoplasmatischen Retikulums. Oft sind in ihrem Innenraum stark elektrodichte Granula von etwa 50 nm Durchmesser zu finden. Sie sind in geringem Abstand von einer Membran umgeben, so daß der Gesamtdurchmesser dieser Teilchen ca. 10 nm beträgt. Vom elektronendichten Zentrum ziehen strahlenförmig feinste Filamente zur Membran. Diese Teilchen finden sich außer im endoplasmatischen Retikulum auch frei im Zytoplasma. Partikel mit diesem Aussehen entsprechen morphologisch Viren, weshalb sie virusartige Partikel genannt werden (56). Das Vorkommen von Autolysosomen sowie der vollständige Zerfall aller Membransysteme der Tumorzelle sind degenerative Zeichen.

3.3 Biochemische Befunde

Wegen seiner guten Vergleichbarkeit mit dem menschlichen malignen Melanom wurde das Hamstermelanom A Mel 3 bereits häufig als experimentelles Modell in der Melanomforschung benützt. Es wurde vor allem versucht, die Besonderheiten des Tumorstoffwechsels zu erfassen und hier

neue Ansatzpunkte für eine wirksame Therapie zu finden. Bei ihren Untersuchungen betreffend den DNS- RNS- und Protein-Metabolismus des Hamstermelanoms fanden Balda et al. (10) die ausgeprägtesten Veränderungen in den Mitochondrien. Sie zeigen einen 15- bis 20-fach höheren DNS-Gehalt gegenüber den Lebermitochondrien. Zudem enthalten sie besondere, im Lebergewebe nicht nachgewiesene Proteinbanden.

4. Zielsetzung und Grundlagen der Experimente

Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll es sein, weitere experimentelle Grundlagen für eine wirksame Behandlung des malignen Melanoms zu erarbeiten.

Es wurde versucht, durch eine Kombination von chemotherapeutischem und strahlentherapeutischem Vorgehen eine größere therapeutische Effektivität bei geringerer Belastung des Organismus zu erreichen.

Diese Art der Therapie geht von der Idee der "Strahlensensibilisierung" aus, d.h. die Strahlenschädigung der Zelle, die in einer Veränderung der DNS-Struktur besteht, wird durch Kombination mit sogenannten "Radiomimetika" verstärkt, die Empfindlichkeit der Tumorzelle gegenüber der Bestrahlung wird durch das Pharmakon erhöht, die Zelle wird "sensibilisiert."

Sensibilisierende Substanzen

Ein idealer Sensibilisator wäre ein Katalysator, der selbst keine Wirkung auf das Substrat ausübt, durch seine Vermittlung aber zu verstärkter Strahlenwirkung führt.

Bedingung für die Wirksamkeit einer strahlensensibilisierenden Substanz sind:

- a) Sie muß in den Tumor gelangen
- b) Das Gewebe muß eine höhere Proliferationsrate als die Umgebung haben, dadurch wird die Einbaurrate des Sensibilisators verstärkt - auf diesen Einbau haben außerdem Applikationsart, Zeitabstand zwischen Verabreichung des Chemotherapeutikums und Bestrahlung sowie Substanzdosis Einfluß.

Nach Mitchell (53) kann eine Strahlensensibilisierung erreicht werden durch Substanzen wie z.B.

O_2 (Steigerung des O_2 - Partialdrucke im Tumorgewebe während der Bestrahlung)

Wasserstoffperoxid

Radikalakzeptoren (NO, Chinone, Trypanblau)

Komplexbildner mit DNS (Actinomycin D, Menadion)

Substanzen, die die chemische Struktur der DNS oder der RNS verändern (BUDR, JUDR)

Sulphydrylgruppen (Jodessigsäure, Menadion, Vitamin K 5)

Nahe Verwandte SH-haltiger Strahlenschutzstoffe (β - Homocystein, Isocystein)

Stoffe, die zur Speicherung von Strahlensensibilisatoren in den Tumorzellen führen (Cholin, Synkavit, Actinomycin D)

Fluoreszierende Substanzen (Testosteron, Gestagene)

Schilddrüsenhormone

Steroide und verwandte Substanzen

Vitamine und ähnliche Substanzen (Lactinoflavin, Synkavit)

Antimetabolite

Mitosegifte (Colchicin, SP-G und SP-J).

Weiter fand er auch immunologische Verfahren sowie die Synchronisation der Zellzyklusphasen und Bestrahlung in der strahlensensiblen Phase zur Strahlensensibilisierung geeignet.

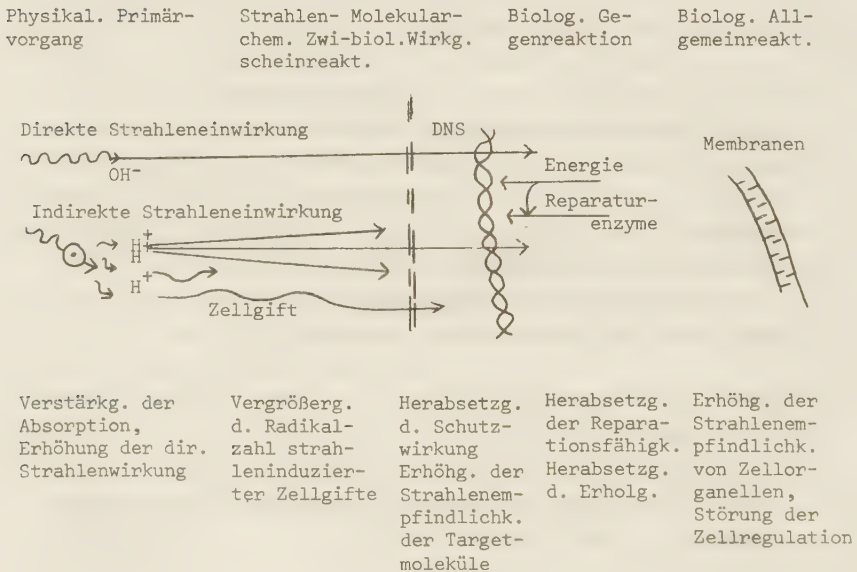
Feinendegen (31) fand Ansätze für die Sensibilisierung zur Effizienzsteigerung der Strahlentherapie von Seiten der zellulären Strahlenbiologie. Danach zeigen die Zellen wechselnde Strahlenempfindlichkeit während der verschiedenen Phasen des Zellzyklus. Weiter ist das Vermögen, subletale Schäden im genetischen Material zu reparieren, unterschiedlich. Dem Wirkmechanismus nach kann also grundsätzlich unterschieden werden zwischen Substanzen, die den Ablauf des Zellzyklus ändern, und direkt sensibilisierenden Chemikalien.

Die Sensibilisierung selbst kann nun in den verschiedensten Richtungen erfolgen:

1. Erhöhung der Wirksamkeit der primären physiko-chemischen Prozesse nach der Absorption der Strahlenenergie führt zu einer stärkeren Schädigung der Makromoleküle der Zelle.

2. Erhöhung der Strahlenempfindlichkeit der DNS durch Einführung halogener Pyrimidine.
3. Erhöhung der Strahlenempfindlichkeit durch Verhinderung der Reparatur der DNS-Schäden.
4. Beeinflussung von Stoffwechselprozessen außerhalb der Zelle.
5. Vorgänge ähnlich der Photosensibilisierung - der Sensibilisator bewirkt unter Aufnahme von Strahlenenergie eine Sensibilisierung des Gewebes.

Nachstehendes Schema von Pohlitz (60) faßt noch einmal die Strahlenwirkung in der Zelle und die Möglichkeiten für eine Sensibilisierung zusammen:



Die Vorteile der kombinierten Therapie sind nach Koch (43):

1. Sensibilisierung refraktär gewordener Fälle
2. Lebensverlängerung
3. Verminderung der Strahlen- bzw. Zytostatikumsdosis
4. Echter Synergismus oder sogar Potenzierung
5. Kürzere Hospitalisierung und einfachere Applikation
6. Früherer Eintritt der Remission
7. Geringere Nebenwirkungen

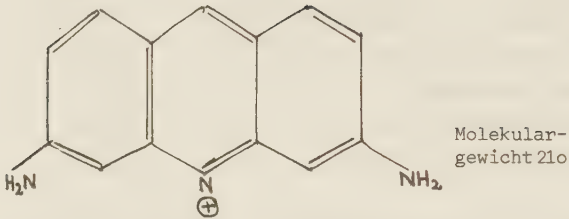
Die Möglichkeiten einer kombinierten Therapie sind keineswegs geklärt, die Versuche beschäftigen sich noch mit Grundlagenforschung. Schneider (62) gelangt in seinen Untersuchungen zu folgendem Schluß:

1. Eine gewisse additive Wirkung kann sich auf Teilmechanismen (Tumorstadium, hämatopoetisches und lymphoretikuläres Gewebe) bemerkbar machen.
2. Variationen der jeweiligen Dosierung sind unumgänglich, um klare Ergebnisse zu erhalten.
3. Überlebenszeiten und Heilungserfolge lassen sich nach den von Schneider angewandten teilweise fraktionierten Bestrahlungsmodifikationen mit simultaner Gabe einer Lokalbestrahlung und eines Zytostatikums nicht verbessern.
4. Zu niedrige oder zu hohe Zytostatikum- oder Bestrahlungsdosen (einzeln oder kombiniert appliziert) verschlechtern konstant die Ergebnisse. Bei zu niedriger Dosierung reicht das Therapeutikum nicht aus, bei zu hohen Gaben ist eine zytostatikabedingte Beeinträchtigung der Abwehrkräfte anzunehmen.

In den nachstehend beschriebenen Versuchen wurden Syrische Goldhamster mit Zellsuspension des Fortner-Melanoms A Mel 3 infiziert und mit Röntgenstrahlen, Chemotherapeutika sowie einer Kombination beider Therapiearten behandelt. Zur Chemotherapie wurden der Akridin-farbstoff Proflavin sowie der Phenanthridinfarbstoff Ethidiumbromid verwendet.

4.1 Proflavin

Proflavin



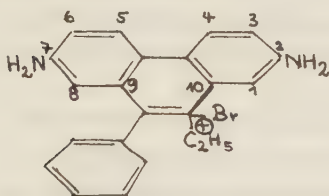
Proflavin zählt zu den Akridinfarbstoffen und wirkt wie diese antibakteriell durch Hemmung der DNS- und RNS-Synthese. Lerman (45) erklärte 1961 mit seinem "sandwich-Modell" die Hemmwirkung des Akridins bei DNS- abhängiger DNS- und RNS-Synthese. Danach lagert sich das Akridinmolekül zwischen zwei benachbarte Ebenen von Basenpaaren und bildet über die Aminogruppen in 3- und 6-Stellungen einen Komplex mit der DNS.

Rasch proliferierende Gewebe müßten folglich besonders sensibel gegenüber Proflavin sein. Das ist der Fall beim Hamstermelanom A Mel 3 nach Fortner, wie zahlreiche Experimente beweisen (7, 8, 9, 14, 16, 76).

So wurde z.B. nachgewiesen, daß Proflavin den mitochondrialen Tumor DNS - Metabolismus beeinflußt (16): Der DNS-Gehalt der Tumor-Mitochondrien schwindet auf ein Drittel des DNS-Gehalts der Leben-Mitochondrien; die Halbwertszeit mitochondrialer DNS (welche mit 3 H Thymidin radioaktiv markiert wurde) verlängert sich bei Proflavin-Behandlung von 60 auf 105 Stunden. Proflavin hemmt also die DNS-Synthese und die DNS-abhängige RNS-Polymerase (7, 8, 14, 18). Weiter wurde ein Proflavin-sensibles Proteinsynthesesystem im Hamstermelanom A Mel 3 entdeckt, das eventuell tumorspezifisch ist und durch tumorspezifische RNS kodiert wird (16, 17). Dafür spricht auch die in vivo deutliche Hemmung des Aminosäureeinbaus in subzelluläre Melanombestandteile, während sich in der Leber - trotz höherer Pro-

flavin-Konzentration eine leichte Stimulation abzeichnet (16). Die Proteine des Melanoms sind - entweder durch Fremdkodierung oder aber in ihrem Synthesemechanismus - von den Proteinen der Leber und des Normalgewebes so verschieden, daß sie im Gegensatz zu ihnen durch Proflavin in ihrer Synthese gehemmt werden. Der Mechanismus dieser Hemmung des Aminosäureeinbaus ist möglicherweise eine Komplexbildung mit der Transfer - RNS.

4.2 Ethidiumbromid



Molekular-
gewicht 394

Ähnlich wie Proflavin wirkt der Phenanthridinfarbstoff Ethidiumbromid, er ist jedoch wesentlich toxischer. Ethidiumbromid hemmt die Aminosäureinkorporation in die RNS, vor allem den Einbau von 3-H-Uridin in hochmolekulare RNS. Für den Mechanismus dieser Hemmung kommen zwei Möglichkeiten in Betracht (18).

Die erste besteht in einer Blockierung der Synthese der DNS-Kopie, verursacht von der viralen RNS durch die reverse Transkriptase. Die zweite Möglichkeit ist die Unterbrechung der Transskription dieser DNS-Kopie in neue virale RNS, katalysiert durch eine DNS-abhängige RNS-Polymerase.

Proflavin und Ethidiumbromid scheinen also sowohl auf Grund ihres Wirkmechanismus als auch auf Grund ihrer chemischen Struktur besonders für eine radio-chemotherapeutische Kombinationsbehandlung geeignet zu sein.

5. Experimenteller Teil

5.1 Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten ca. 60 - 80 g schwere weibliche Syrische Goldhamster.

Die Tiere wurden von der Firma Bäumler, Wolfratshausen, bezogen. Die Hamster wurden in Einzelkäfigen bei einer Raumtemperatur von 20°C gehalten.

Die Nahrung der Tiere bestand aus Altromin[®] - Trockenfutter und Wasser in Trinkflaschen ad libitum.

Zur Gewinnung der für die Tumorerzeugung nötigen Zellsuspension aus Hamstermelanomen A Mel 3 nach Fortner dienten im Labor permanent durch Tumorzellinjektion gehaltene Tumoren.

Nach Töten der Tiere durch Dekapitieren und steriler Präparation des Tumors wurde ein Stück der nicht nekrotischen Randzone sorgfältig isoliert, nach Spülen in steriler physiologischer Kochsalz-Lösung mit der Schere fein zerkleinert, nochmals kurz gewaschen und mit einem Plexiglas-Homogenisator nach Potter - Elvehjem homogenisiert. Die Überimpfung der Tumoren erfolgt subkutan in Schulter- und Rücken-gegend. Die jeweils pro Tier überimpften 0,5 ml Zellsuspension enthielten $1,5 - 3,0 \times 10^6$ Melanomzellen. Diese Konzentration wurde durch Auszählen in einer Neubauer-Zählkammer kontrolliert. Der prozentuale Anteil der vitalen Zellen wurde durch Anfärben mit Trypanblau nachgeprüft.

Proflavin ($C_{13}H_{11}N_2^+$, Fluka AG, Buchs SG, Schweiz) wurde täglich subkutan injiziert. Die Tagesdosis betrug 2,5 mg, entsprechend 25 mg Proflavin pro kg Körpergewicht. Die LD 50 beträgt 100 mg pro kg Körpergewicht oder mehr; sie wurde hier also erheblich unterschritten.

Ethidiumbromid ($C_{21}H_{20}N_3Br$, Firma Serva-Heidelberg) wurde täglich in einer Dosis von 1,25 mg/0,5 ml, entsprechend 12,5 mg pro kg Körpergewicht subkutan verabreicht.

Die zur Bestrahlung der Tiere notwendige Betäubung wurde zunächst mit Äther und später mit Nembutal[®] intraperitoneal mit 5-6 mg pro Tier vorgenommen.

Zur Bestrahlung wurde das Gerät Dermopan[®] der Firma Siemens verwendet. Mit diesem Gerät ist es möglich, innerhalb verschiedener Gewebshalbwertstiefen (GHWT) zu bestrahlen. Je nach Tumorgroße und -dicke wurden täglich 1000r mit verschiedenen Einstellungen verabreicht.

Stufe	Tubus	FHA (Focus-Haut-Abstand)	Zeit	GHWT
III	III	15 (mm)	2,34 (min)	8 (mm)
III	IV	15 bei jeweils	2,27	8
IV	III	15 1000r, 220 V	2,51	11
IV	IV	15 und 20 mA	2,46	11

Bei Verwendung des Tubus III (bei geringerem Tumordurchmesser) waren zur Erzielung dieser Dosis bei Stufe III (bei geringerer Tumordicke) - bei gleichbleibender Volt- und Milliampèreleistung - 2,34 Minuten Bestrahlungsdauer nötig. Bei Verwendung des Tubus IV (bei größerem Tumordurchmesser) und gleichbleibenden sonstigen Verhältnissen betrug die Bestrahlungsdauer 2,27 Minuten. Wurde bei Verwendung des Tubus III mit Stufe IV (bei größerer Tumordicke) bestrahlt, so erhöhte sich die Bestrahlungszeit auf 2,51 Minuten, bei Verwendung des Tubus IV und Stufe IV auf 2,46 Minuten.

Kombinationsbehandlung

Bei der Kombinationsmethode wurde zunächst das Chemotherapeutikum injiziert und etwa 1 Stunde später bestrahlt. Die Bestrahlung konnte aus technischen Gründen nur an 5 Tagen der Woche (Montag mit Freitag) erfolgen. Die Behandlung mit Proflavin und Ethidiumbromid wurde dagegen täglich durchgeführt.

Auswertung

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde als Lebensdauer die Zeitspanne

zwischen Überimpfen der Tumorzellsuspension und dem Tod der Tiere gewertet. Das Tumolvolumen wurde durch Wasserverdrängung der herauspräparierten Geschwulst bestimmt. Bewertet wurden nur Primärtumoren, Metastasen blieben unberücksichtigt.

Die Versuche wurden in drei Gruppen durchgeführt:

1. Kombinationstherapie: Proflavin und Bestrahlung
2. Kombinationstherapie: Ethidiumbromid und Bestrahlung
3. Reine Strahlentherapie

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Kombinationsbehandlung mit Proflavin und Bestrahlung

a) Tumorgröße

Die Kombinationsbehandlung mit Proflavin und Röntgenstrahlen bewirkte eine starke Verminderung des Tumorwachstums. Gegenüber der als 100 % angenommenen Tumorgröße der Kontrolltiere, durchschnittlich 9 cm^3 , betrug die der mit der Kombinationsmethode behandelten Tiere nur noch 38,3 %, was einer durchschnittlichen Tumorgröße von $3,45 \text{ cm}^3$ entspricht. Der größte Tumor dieser Versuchsreihe maß $6,0 \text{ cm}^3$, der kleinste $0,5 \text{ cm}^3$. Auch zeigte sich, daß die Kombinationstherapie der reinen Chemotherapie (76) überlegen war: Durch Behandlung mit Proflavin konnte die Tumorgröße, die durchschnittlich 8 cm^3 betrug, gegenüber den Kontrolltumoren nur um 11 % verringert werden, war also um 50,3 % größer als nach der Kombinationsbehandlung.

b) Lebensdauer

Durch die Kombinationstherapie mit Proflavin und Bestrahlung konnte die Lebensdauer gegenüber der der Kontrolltiere (100 % entsprechend 21,5 Tage) um 7,8 % auf 23,18 Tage verlängert werden. Das Maximum lag hier bei 34 Tagen, das Minimum bei 14 Tagen. Auch

hier war das Ergebnis günstiger als bei reiner Chemotherapie: Die Behandlung mit Proflavin allein bewirkte eine Lebensverkürzung um 2,3 %.

Nachstehend sind die Versuchsergebnisse noch einmal tabellarisch zusammengefaßt und graphisch dargestellt:

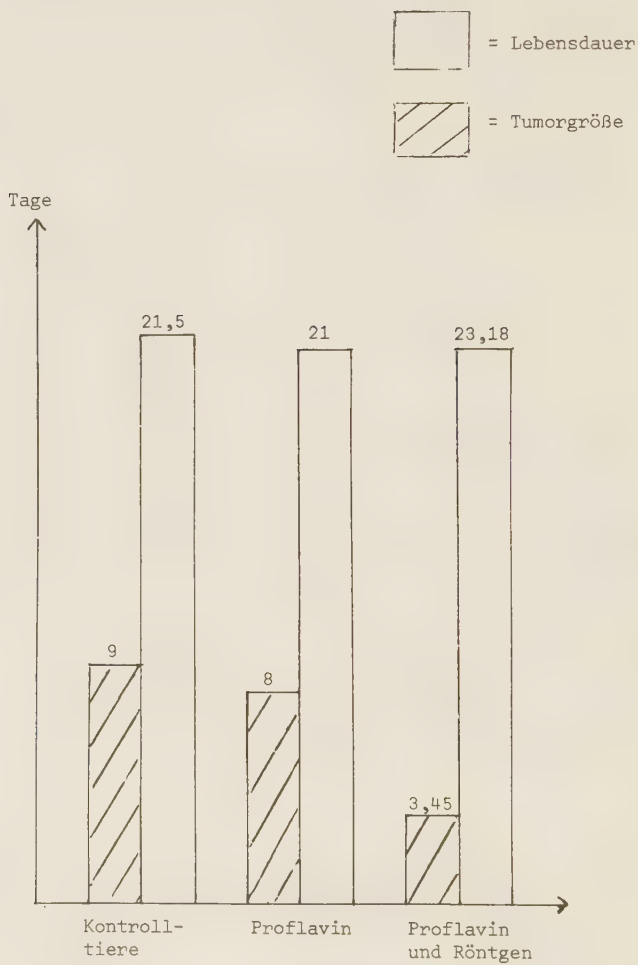
Tab. 1: Tabellarische Übersicht
von Tumorgroße, Lebensdauer und Röntgendosis

Tiere	Tumorgroße	Lebensdauer	Röntgendosis
1	5 cm ³	28 Tage	10 000 r
2	2	29	11 000
3	0,5	34	14 000
4	6	17	8 000
5	4	21	11 000
6	2	22	12 000
7	2,5	27	14 000
8	5	14	5 000
9	6	21	10 000
10	3	21	10 000
11	2	21	10 000
11	3,45	23,18	10 455

Tumorgroße	Kontrolle	100 %
	Proflavin-Behandlung	-11 %
	Proflavin und Röntgen	-61,7 %

Lebensdauer	Kontrolle	100 %
	Proflavin-Behandlung	-2,3 %
	Proflavin und Röntgen	+7,8 %

Abbildung 1: Vergleich von Lebensdauer und Tumorgröße bei
a) Kontrolltieren
b) mit Proflavin behandelten Tieren
c) mit Kombinationsmethode behandelten Tieren



5.2.2 Kombinationsbehandlung mit Ethidiumbromid und Bestrahlung

a) Tumorgröße

Die Kombinationsbehandlung mit Ethidiumbromid und Bestrahlung bewirkte ebenfalls einen starken Rückgang des Tumorwachstums. Gegenüber den durchschnittlich 9 cm^3 großen Tumoren der Kontrolltiere entsprechend 100 % war die Durchschnittsgröße der Tumoren dieser Versuchsreihe 3 cm^3 , also 33,3 % des Kontrollwertes. Der größte registrierte Tumor maß 12 cm^3 , der kleinste $0,2 \text{ cm}^3$. Auch hier war das Ergebnis günstiger als bei reiner Chemotherapie (76): Bei Behandlung mit Ethidiumbromid alleine betrug die durchschnittliche Tumorgröße $4,3 \text{ cm}^3$, die Größenverminderung gegenüber den Kontrolltumoren (9 cm^3 gleich 100 %) betrug also nur 47,8 % und lag damit um 14,5 % über dem Durchschnittswert der Kombinationstherapie.

b) Lebensdauer:

Die Lebenserwartung wurde auch durch diese Therapie etwas erhöht: Gegenüber den als 100 % angenommenen 21,5 Tagen Lebensdauer der Kontrolltiere wurde in diesem Versuch ein Durchschnittswert von 21,9 Tagen ermittelt, was einer Verlängerung von 1,9 % entspricht. Das Maximum der registrierten Werte lag bei 38 Tagen, die kürzeste Lebensdauer betrug 9 Tage. Die Behandlung mit Ethidiumbromid ohne Kombination mit Bestrahlung (76) brachte hier negative Werte:

Die durchschnittliche Lebenserwartung lag bei 19 Tagen, was einer Verkürzung des Lebens um 11,6 % entspricht.

Die folgende Tabelle stellt das Versuchsergebnis übersichtlich dar:

Tab. 2: Tabellarische Übersicht
von Tumorgröße, Lebensdauer und Röntgendosis

Tiere	Tumorgröße	Lebensdauer	Röntgendosis
1	7 cm ³	33 Tage	12 000 r
2	0,25	38	19 000
3	12	19	9 000
4	4	24	10 000
5	0,2	28	14 000
6	1	14	5 000
7	3	15	6 000
8	2	18	8 000
9	0,5	21	10 000
10	1	22	11 000
11	0,5	9	1 000
11	3	21,9	9 000

Tumorgröße	Kontrolle	100 %
	Behandlung mit Ethidiumbromid	-52,2 %
	Ethidiumbromid und Bestrahlung	-66,7 %

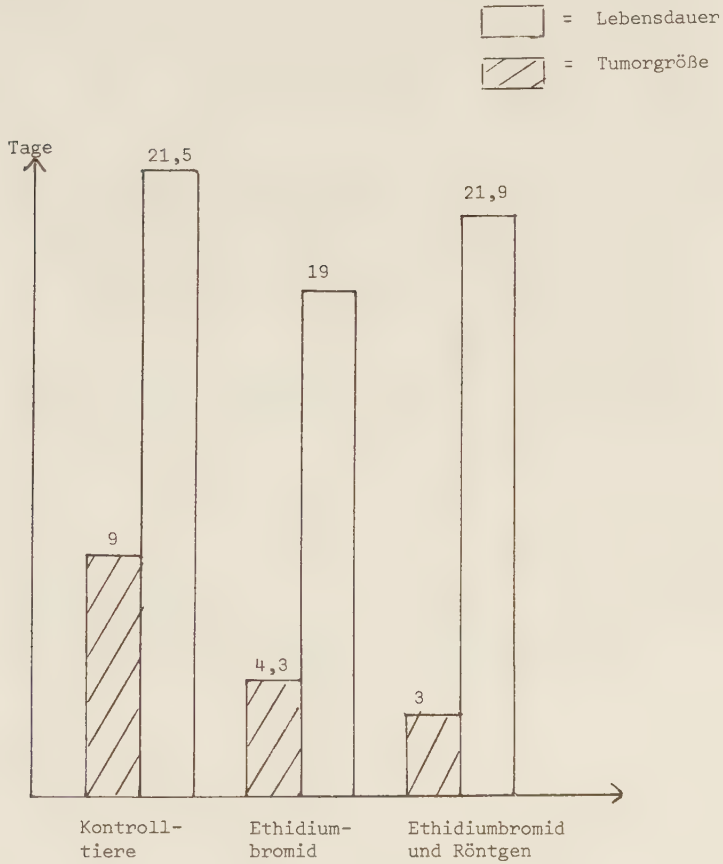
Lebensdauer	Kontrolle	100 %
	Behandlung mit Ethidiumbromid	-11,6 %
	Ethidiumbromid und Bestrahlung	+ 1,9 %

Abbildung 2: Vergleich der Lebensdauer und Tumorgroße von

a) Kontrolltieren

b) mit Ethidiumbromid behandelten Tieren

c) mit Kombinationsmethode behandelten Tieren



5.2.3 Alleinige Röntgentherapie

a) Tumorgröße

Die Strahlentherapie hatte einen starken Rückgang der Tumorgröße zur Folge. Verglichen mit dem als 100 % angesetzten Durchschnittswert der Kontrolltumoren (9 cm^3) wurde eine Verminderung des Tumorwachstums um 67,8 % registriert. Die Durchschnittsgröße der Tumoren dieser Versuchsreihe betrug $2,9 \text{ cm}^3$. Der kleinste beobachtete Tumor war $0,5 \text{ cm}^3$ groß, der größte maß 9 cm^3 .

b) Lebensdauer

Auch dieser Versuch führte zu einer leichten Verlängerung der Lebensdauer: gegenüber dem Kontrollwert von 21,5 Tagen gleich 100 % betrug der hier ermittelte Durchschnittswert 23,8 Tage, was einer Verlängerung des Lebens um 10,2 % entspricht.

Die kürzeste registrierte Lebensdauer betrug hier 14 Tage, das Maximum lag bei 37 Tagen.

In der Folge sind die Daten dieses Versuches nochmals tabellarisch zusammengefaßt und das Ergebnis schematisch dargestellt:

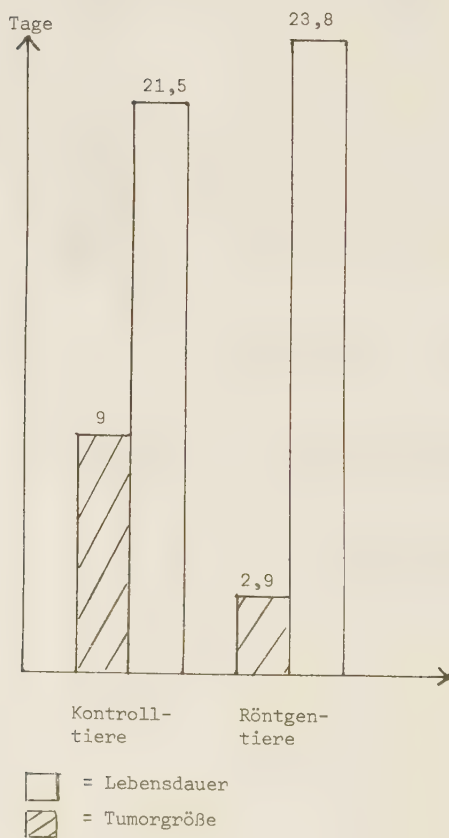
Tab. 3: Tabellarische Übersicht
von Tumorgroße, Lebensdauer und Röntgendosis

Tiere	Tumorgroße	Lebensdauer	Röntgendosis
1	1 cm ³	35 Tage	18 000 r
2	4	20	9 000
3	0,5	23	12 000
4	3	25	14 000
5	6	37	14 000
6	0,5	14	5 000
7	9	18	9 000
8	2,5	19	10 000
9	1	21	10 000
10	0,5	22	11 000
11	3,5	27	11 000
11	2,9	23,7	11 181

Tumorgroße	Kontrolle	100 %
	Strahlentherapie	-67,8 %

Lebensdauer	Kontrolle	100 %
	Strahlentherapie	+10,2 %

Abbildung 3: Vergleich der Lebensdauer und Tumorgrößen von
a) Kontrolltieren
b) mit Strahlentherapie behandelten Tieren



5.2.4 Vergleich der Versuchsreihen

Durch die hier beschriebenen Experimente sollen Therapiemöglichkeiten des Hamstermelanoms A Mel 3 nach Fortner untersucht werden. Da Proflavin und Ethidiumbromid alleine bereits einen guten Hemmeffekt auf das Wachstum dieses Melanoms ausüben (8, 9, 14, 15, 17, 18, 76) wird versucht, durch Kombination dieser Pharmaka mit Röntgenstrahlen eine Addition oder sogar Potenzierung der günstigen Ergebnisse beider Behandlungsmethoden zu erreichen. Zum Vergleich werden nur mit Röntgenstrahlen behandelte Tiere herangezogen. In den folgenden Ausführungen werden die Ergebnisse der Untersuchungen von G. Stöß (76) hinsichtlich Beeinflußbarkeit des Hamstermelanoms durch Proflavin- und Ethidiumbromidgaben mit berücksichtigt.

5.2.4.1 Tumorgrößen

Die Tumorgröße läßt sich durch alle Behandlungsmethoden verringern, d. h., das Tumorwachstum wird von allen angewendeten Maßnahmen gehemmt. Wird dabei die Tumorgröße der Kontrolltiere als 100 % angenommen, so läßt sich das Tumorwachstum verringern durch

c) Proflavin	um 11 %
d) Ethidiumbromid	52,2 %
1. Kombination von Proflavin und Röntgenstrahlen	61,7 %
2. Kombination von Ethidiumbromid und Röntgenstrahlen	66,7 %
3. Alleinige Strahlentherapie	67,8 %

Ethidiumbromid wirkt also trotz wesentlich schwächerer Konzentration deutlich stärker hemmend als Proflavin.

Der Effekt der Chemotherapie läßt sich durch zusätzliche Bestrahlung noch steigern. Auch bei der Kombinationsbehandlung zeigt die mit Ethidiumbromid behandelte Gruppe den stärkeren Rückgang im Tumorwachstum. Gegenüber der reinen zytostatischen Therapie ist aber die Hemmwirkung beider Zytostatika in Kombination mit Bestrahlung relativ ausgeglichen. (11 % und 52,2 % bei c) und d) gegenüber 61,7 % bei 1. und 2.)

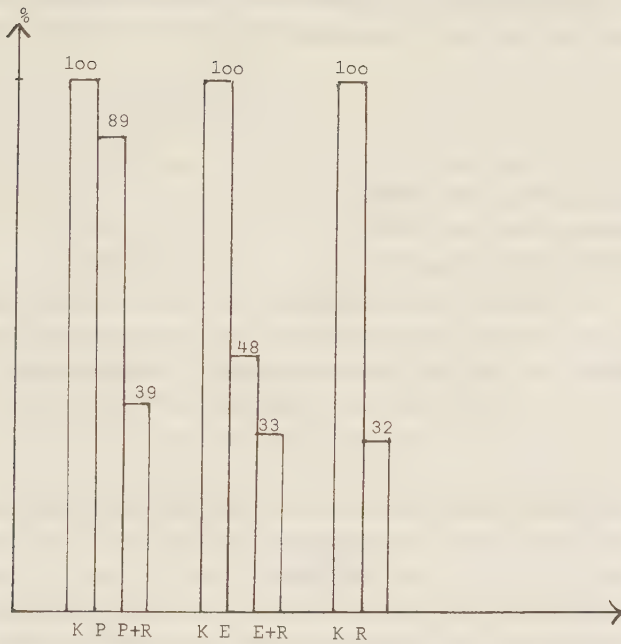
Entgegen unseren Erwartungen zeigt jedoch die reine Strahlentherapie die besten Ergebnisse. Die Hemmung des Tumorstwachstums ist bei ihr noch stärker als bei der Kombinationsmethode.

Abbildung 4: Vergleich der Tumorstgrößen der verschiedenen Versuchsgruppen:



- K = Kontrolltiere
P = mit Proflavin behandelte Tiere
E = mit Ethidiumbromid behandelte Tiere
P+R = mit Kombinationstherapie - Proflavin und Bestrahlung - behandelte Tiere
E+R = mit Kombinationsbehandlung - Ethidiumbromid und Bestrahlung - behandelte Tiere
R = mit Bestrahlung behandelte Tiere

Abbildung 5: Vergleich der Tumorgrößen der Versuchsgruppen



- K = Kontrolltiere
P = mit Proflavin behandelte Tiere
E = mit Ethidiumbromid behandelte Tiere
P+R = mit Kombinationstherapie - Proflavin und Bestrahlung - behandelte Tiere
E+R = mit Kombinationsbehandlung - Ethidiumbromid und Bestrahlung - behandelte Tiere
R = mit Bestrahlung behandelte Tiere

5.2.4.2 Lebensdauer

Die alleinige Chemotherapie wirkt nicht lebensverlängernd. Die mit Tumorzellsuspension geimpften und dann sich selbst überlassenen Kontrolltiere leben länger als die mit Proflavin und Ethidiumbromid behandelten Tiere. Trotz geringerer Konzentration schneidet dabei das Ethidiumbromid am schlechtesten ab - das Allgemeinbefinden der Tiere verschlechtert sich während der Chemotherapie trotz gebremsten Tumorwachstums ständig und verkürzt so das Leben der behandelten Tiere gegenüber den Kontrolltieren. Wird die Lebensdauer der Kontrolltiere als 100 % angenommen, so läßt sie sich verändern durch Behandlung mit

c) Proflavin	um - 2,3 %
d) Ethidiumbromid	- 11,6 %
1. Kombinationsbehandlung Proflavin / RÖ.	+ 7,8 %
2. Kombinationsbehandlung Ethidiumbromid / RÖ.	+ 1,9 %
3. Alleinige Strahlentherapie	+ 10,2 %

Obwohl die LD 50 beider Chemotherapeutika bei weitem nicht erreicht wird, wirken sie sich doch negativ, d.h. lebensverkürzend aus. Sowohl Proflavin als auch Ethidiumbromid hemmen die Virusreduktion (17, 18), was den erwünschten Effekt darstellt. Die Allgemeintoxizität jedoch überwiegt und wirkt sich lebensverkürzend aus.

Die besten Ergebnisse für eine Lebensverlängerung finden sich, verglichen mit allen anderen Versuchsgruppen, bei der alleinigen Strahlentherapie. Die Tiere dieser Versuchsgruppe weisen auch - im Gegensatz zu denen der anderen Versuchsreihen - noch einen relativ guten Allgemeinzustand auf. Die Kombinationsbehandlung führt zu einer leichten Verlängerung der Lebensdauer, die aber - da einerseits zwar höher als bei der Chemotherapie, andererseits aber niedriger als bei der reinen Bestrahlungsbehandlung - wohl vor allem auf den Effekt der Bestrahlung zurückzuführen ist.

Über die Röntgendosis läßt sich hinsichtlich der Beziehung zu Lebensdauer und Tumorgröße keine klare Aussage treffen, da rascheres Tumorstadium automatisch niedrigere Gesamtstrahlendosen (die Bestrahlung wurde abgebrochen, sobald der Tumor mit Tubus IV und Stufe IV nicht mehr erfaßbar war) bzw. gehemmtes Tumorstadium höhere Gesamtdosen nach sich zogen.

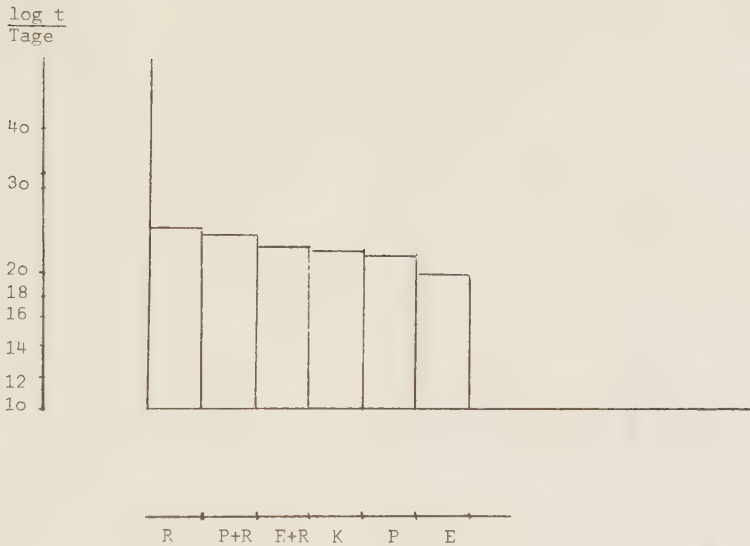
5.2.5 Vergleich von Strahlentherapie mit Kombinationsbehandlung und alleiniger Chemotherapie

Nimmt man die Lebensdauer der mit reiner Bestrahlungstherapie behandelten Tiere als 100 % an, so wirkt sich die Kombinationsbehandlung mit Proflavin und Bestrahlung gering verkürzend auf die Lebenserwartung aus, und zwar um 2,2 %; bei Behandlung mit Ethidiumbromid und Röntgenstrahlen 7,7 %. Diese unerwartet ungünstigen Ergebnisse liegen wohl in der Toxizität der beiden Pharmaka begründet. Obwohl die LD 50 bei den hier verwendeten Konzentrationen bei weitem unterschritten werden, wird der Allgemeinzustand der Tiere durch die sich täglich wiederholenden Injektionen stark herabgesetzt. Möglicherweise kumulieren diese beiden Zytostatika.

Wenn man die Tumorgröße der mit alleiniger Bestrahlungstherapie behandelten Tiere gleich 100 % setzt, ergibt sich für die Kombinationsbehandlung mit Proflavin und Röntgenstrahlen eine Tumorergrößerung um 19 %, für die Therapie mit Ethidiumbromid und Bestrahlung eine Vergrößerung um 3,4 %. Auch hier wurde dieses negative Ergebnis nicht erwartet. Es berechtigt jedoch immerhin zu dem Schluß, daß die gegenüber den Ergebnissen der reinen Chemotherapie günstigeren Resultate der Kombinationsbehandlung - sowohl was Tumorgröße als auch was die Lebensdauer anbelangt - wohl vor allem auf den Effekt der Bestrahlung zurückzuführen sind.

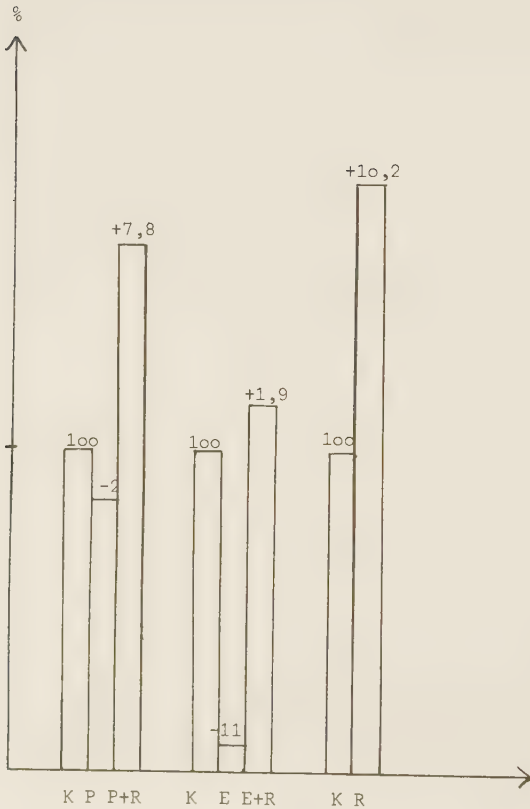
Ob die beiden Zytostatika Proflavin und Ethidiumbromid zur Kombination mit Bestrahlungstherapie geeignet sind bzw. ob sie strahlensensibilisierend wirken, läßt sich aus den hier beschriebenen Versuchen nicht mit Sicherheit festlegen. Die durch die Toxizität der beiden Pharmaka bedingte negative Wirkung überlagert den etwaigen positiven, das heißt strahlensensibilisierenden Effekt und läßt dadurch keine eindeutigen Aussagen zu. Weitere Versuche, bei denen vor allem die Dosis sowohl des Chemotherapeutikums als auch der Röntgenstrahlen und auch der Bestrahlungsrhythmus variiert werden sollten, würden hier weitere Klärung bringen.

Abbildung 6: Vergleich der Lebensdauer der Versuchsgruppen
in Tagen



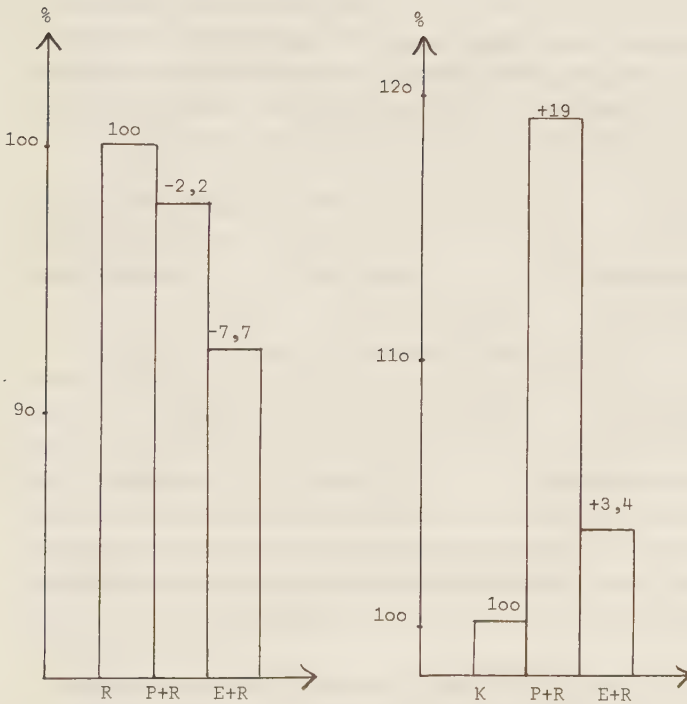
- K = Kontrolltiere
P = mit Proflavin behandelte Tiere
E = mit Ethidiumbromid behandelte Tiere
P+R = mit Kombinationstherapie - Proflavin und Bestrahlung -
behandelte Tiere
E+R = mit Kombinationsbehandlung - Ethidiumbromid und Bestrahlung -
behandelte Tiere
R = mit Bestrahlung behandelte Tiere

Abbildung 7: Vergleich der Lebensdauer der Versuchsgruppen
in Prozent



- K = Kontrolltiere
P = mit Proflavin behandelte Tiere
E = mit Ethidiumbromid behandelte Tiere
P+R = mit Kombinationstherapie - Proflavin u. Bestrahlung - behandelte Tiere
E+R = mit Kombinationsbehandlung - Ethidiumbromid u. Bestrahlung - beh.Tiere
P = mit Bestrahlung behandelte Tiere

Abbildung 8 a) und b): Vergleich der Lebensdauer von strahlenbehandelten und kombiniert behandelten Tieren in Prozent



- K = Kontrolltiere
- P = mit Proflavin behandelte Tiere
- E = mit Ethidiumbromid behandelte Tiere
- P+R = mit Kombinationstherapie - Proflavin u. Bestrahlung - behandelte Tiere
- E+R = mit Kombinationsbehandlung - Ethidiumbromid u. Bestrahlung - beh.Tiere
- R = mit Bestrahlung behandelte Tiere

6. Diskussion

Die Vorteile der Kombinationstherapie gegenüber reiner Chemotherapie und reiner Bestrahlungsbehandlung liegen vor allem in einer verstärkten Wirkung der beiden kombiniert angewendeten Therapeutika, welche durch Addition, Synergismus oder Potenzierung zustande kommen kann. Weiter sind durch die Kombinationsmethode Dosiseinsparungen sowohl bei der Bestrahlung als auch bei der Injektion des Pharmakons möglich - diese Therapie bietet also die Möglichkeit, bei gleicher Effektivität die Belastung des Organismus zu verringern.

Unter diesen Gesichtspunkten wurde in den hier ausgeführten Experimenten versucht, durch Kombinationsbehandlung Proflavin / Röntgenbestrahlung und durch Ethidiumbromid / Röntgenbestrahlung die Ergebnisse gegenüber den bei Behandlung mit beiden Pharmaka alleine und bei reiner Bestrahlungstherapie erzielten Resultaten zu verbessern.

Die hier beschriebenen Versuche führten zu einer Verringerung des Tumorwachstums durch

reine Chemotherapie	Proflavininjektion	um 11 %
	Ethidiumbromidinjektion	um 25,2 %
Kombinationstherapie	Kombination Profl. / RÖ.	um 61,7 %
	Kombination Ethid. / RÖ.	um 66,7 %
reine Strahlentherapie		um 67,7 %

Das Tumorwachstum wurde also bereits durch die reine Chemotherapie gehemmt, und zwar - entsprechend der stärkeren Toxizität - durch Ethidiumbromid stärker als durch Proflavin.

Die Kombination mit Röntgenstrahlen verstärkte die Hemmwirkung wesentlich, Ethidiumbromid zeigte auch hier die ausgeprägteren Resultate, jedoch war in der Kombinationstherapie der Unterschied zum

schwächer wirkenden Proflavin nicht mehr so stark. Die günstigsten Ergebnisse wurden bei der reinen Strahlentherapie beobachtet. Durch das Fehlen der bei der Kombinationsmethode immer vorhandenen, durch die Pharmaka bedingten toxischen Komponente - bestehend aus allgemeiner toxischer Wirkung und möglicherweise auch einer Immunsuppression wurde hier der Organismus der Versuchstiere nicht so stark belastet, sie zeigten gegenüber den mit Chemotherapie und Kombinationsmethode behandelten Tieren einen relativ guten Allgemeinzustand. Es liegt also der Schluß nahe, daß die gegenüber der reinen Chemotherapie günstigeren Resultate vor allem auf den Einfluß der Bestrahlung zurückzuführen sind.

Die Versuche erbrachten weiter eine Veränderung der Lebenserwartung durch

Chemotherapie	Proflavininjektion	um - 2,3 %
	Ethidiumbromidinjektion	um - 11,6 %
Kombinationstherapie	Kombination Profl. / RÖ.	um + 7,8 %
	Kombination Ethid. / RÖ.	um + 1,9 %
Strahlentherapie	Bestrahlung	um + 10,2 %

Die reine Chemotherapie führte also zu einer Verkürzung der Lebensdauer. Der Grund dafür ist in der Toxizität der beiden verwendeten Pharmaka zu suchen, die sich vor allem in einer schweren Schädigung der parenchymatösen Organe, hauptsächlich Leber und Nieren, äußert. Durch die sich täglich wiederholenden Injektionen kam es zur Anreicherung der Pharmaka besonders in der Leber (14) und - neben der erwünschten Hemmung des Tumorwachstums - zur Schädigung des gesamten Stoffwechsels. Der Allgemeinzustand der Tiere war, trotz relativ kleiner Tumoren, sehr geschwächt.

Die Kombinationsmethode führte zu einer geringen Verlängerung des Lebens. Entsprechend der stärker verkürzenden Wirkung der Behandlung mit Ethidiumbromidinjektionen, verursacht durch die größere Toxizität des Pharmakons, war der Effekt der Kombinationsbehandlung Ethidiumbromid /

Bestrahlung geringer als der der Therapie mit Proflavin und Röntgenstrahlen, wie sich ja schon in der reinen Chemotherapie Proflavin als günstiger (weniger lebensverkürzend, da nicht toxisch) erwies.

Die besten Ergebnisse hinsichtlich der Lebenserwartung zeigte jedoch die reine Strahlentherapie. Ihr Vorteil ist vor allem - gegenüber Chemotherapie und auch Kombinationsmethode - die relativ geringe Belastung des übrigen Organismus. Des weiteren berechtigt dieses Ergebnis zu dem Schluß, daß der positive Effekt der Kombinationsbehandlung gegenüber der reinen Chemotherapie vor allem auf den Effekt der Bestrahlung zurückzuführen ist, daß evtl. sogar durch die Bestrahlung die lebensverkürzende Tendenz der beiden Pharmaka ausgeglichen wird. Somit erwies sich auch hinsichtlich der Lebenserwartung die reine Strahlentherapie als die beste Behandlung.

Zwar ist der Grundgedanke einer Effizienzsteigerung durch die Kombinationstherapie bestechend, doch kann selbstverständlich auch eine Kumulation schädigender Einflüsse auftreten, so daß hier eine Engung der therapeutischen Breite entsteht. In weiteren Experimenten müßte hier versucht werden, etwa durch strukturelle Veränderungen die schädigende Komponente auszuschalten und die erwünschte Wirkung der Chemotherapeutika zu verstärken.

7. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur experimentellen Melanom-Therapie leisten. Es wurde versucht, neue Behandlungsg Grundlagen zu erarbeiten und vor allem dort Ansätze zu finden, wo die herkömmliche Therapie der Wahl, der Chirurgie, versagt.

Als experimentelles Modell diente das Hamstermelanom A Mel 3 nach Fortner, das hierfür - da dem menschlichen Melanom hinsichtlich Histologie und Mikor- und Ultrastruktur gut vergleichbar - besonders geeignet erschien.

Die Resultate der Experimente ergaben eine größere Effizienz der Kombinationsbehandlung mit Zytostatikum und Bestrahlung gegenüber der reinen Chemotherapie. Überraschenderweise wurden jedoch durch reine Bestrahlungstherapie die besten Ergebnisse erzielt. Die Erklärung hierfür ist die zu große Toxizität der beiden verwendeten Pharmaka Proflavin und Ethidiumbromid. Eventuell sind beide - in geringeren Dosen angewendet - durchaus für die Kombinationsbehandlung geeignet. Hier könnten weitere Versuche, die die Abschwächung oder Ausschaltung der schädigenden Komponente des Pharmakons - etwa durch strukturelle Veränderung - zum Ziel haben sollten, Klärung zu bringen.

Da die Toxizität der beiden hier verwendeten Therapeutika wohl den Hauptgrund für die ungünstigen Resultate in der Kombinationsbehandlung darstellte, mußten vor allem weitere Alternativen hinsichtlich der Wahl des Pharmakons untersucht werden.

8. Literaturverzeichnis

- 1 Ammon, J., zum Winkel, K., Hermann, H.J., Janßen, B., Schmidt, L., Günther, W.
Grundlagen, Technik und klinische Durchführung der synchronisierten Strahlentherapie
Strahlentherapie 144/IV, 625 - 634 (1972)
- 2 Andreev, V.Ch., Kristev, B.M.
Über die Behandlung der malignen Melanome im Hinblick auf Lokalisation und Entwicklungsstadium
Strahlentherapie 115, 53 - 64 (1963)
- 3 Assmann, H.
Kombinationsbehandlung von Lungenmetastasen mit Strahlen- und Chemotherapie
Strahlentherapie 137, 670 - 574 (1969)
- 4 Arma - Szlachic, M., Ott, F., Storck, H.
Zur Strahlentherapie der melanotischen Präkanzerosen
Der Hautarzt 21, 505 - 508 (1970)
- 5 Balda, B.-R.
Zur Molekularbiologie des Hamstermelanoms A Mel 3, einem möglichen Modell für das menschliche maligne Melanom
Habil. Schr. Univ. München (1971)
- 6 -, Wolff, H.H., Birkmayer, G.D., Braun - Falco, O.
Virus - like particles in the Hamster Melanoma A Mel 3 of Fortner
Die Naturwissenschaften 57, 548 (1970)
- 7 -, Birkmayer, G.D.
Nucleinsäure - und Proteinsynthese des Hamstermelanoms unter dem Einfluß von Pharmaca. I. In - vivo - Studien der DNS-Synthese in Hamstermelanomen
Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmak. 266, 219 (1970)
- 8 -, -
Der Einfluß von Proflavin auf den DNS - Stoffwechsel des Hamstermelanoms
Arch. klin. exp. Derm. 239, 176 - 184 (1970)
- 9 -, -
Zur Hemmwirkung von Proflavin auf den Einbau von DNS-, RNS- und Proteinvorstufen in Hamstermelanomen
Arch. Derm. Forsch. 241, 107 - 113 (1972)
- 10 -, -
Zum Stoffwechsel maligner Melanome, biochemische Untersuchungen
Arch. Derm. Forsch. 244, 278 - 279 (1972)

- 11 -, Hehlmann, R., Cho, J.-R., Spiegelman, S.
Oncornavirus - like Particles in Human Skin Cancers
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72/9, 3697 - 3700 (1975)
- 12 Bauer, F.K., Steffen, C.H.G.
J.A.M.A. 158 (1955)
- 13 Becker, J., Scheer, K.
Radioaktive Isotope in Diagnostik und Therapie der Geschwulst-
krankheiten
Krebsarzt 9, 129 - 138 (1954)
- 14 Birkmayer, G.D., Balda, B.-R.
Proflavine Inhibition of Protein Synthesis in Malignant Hamster
Melanoma
FEBS Letters 11, 3 (1970)
- 15 -, Miller, F.
Oncorna - Viral Information in Human Melanoma
Europ. J. Cancer 10, 419 -424
- 16 -,
Differences in the In - Vitro Amino Acid Labelling Pattern of
Mitochondria from Melanoma and Liver
FEBS Letters 15/II, 156 - 160 (1971)
- 17 -,
Evidence for Proflavine Sensitive Proteins in Malignant Hamster
Melanoma
Hoppe - Seyler'sche Z. Physiol. Chem. 353, 780 - 790 (1972)
- 18 -,
Inhibition of High Molecular Weight RNA Synthesis in a Hamster
Melanoma by Ethidium Bromide In Vivo
Hoppe - Seyler'sche Z. Physiol. Chem. 353, 1749 - 54 (1972)
- 19 Braun - Falco, O.
Cytostatica und Immunsuppressiva in der Dermatologie
Der Hautarzt 21, 391 (1970)
- 20 -
Maligne Melanome der Haut aus dermatologischer Sicht
Chirurg 45, 345 - 356 (1974)
- 21 Cawley, E.P. et al.
Arch. Derm. Syph. 70 (1954)
- 22 Clark, W.H. jr.
in: W. Montagna and F. Hu: Advances and Biology of the Skin -
The Pigmentary System
A Classification of Malignant Melanoma in Man Correlated with
Histogenesis and Biologic Behaviour
London, Pergamon Press Ltd. I/8

- 23 -, From, L., Bernhardino, E.A., Mihm, M.C.
The Histogenesis and Biologic Behaviour of Primary Human
Malignant Melanomas of the Skin
Cancer Res. 29, 705 (1969)
- 24 Cohen, S.M., Greenspan, E.M., Weiner, J.M., Kabakow, B.
Triple Combination Chemotherapie of Disseminated Melanoma
Cancer 29/IV, 1489 - 1495 (1972)
- 25 Cooper, M., Mishima, Y.
Increased In - Vitro Radiosensitivity of Malignant Melanoma,
Induced by the In - Vivo - Administration of Chlorpromazine
Br. J. Derm. 86, 492 - 494 (1972)
- 26 Creech, O., Krementz, J.
J. Amer. Med. Ass. 188, 855 (1964)
- 27 Dannenberg, H., Sonnenbichler, J.
Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen aromatischen Kohlen-
wasserstoffen und Aminen mit DNS
Zschr. f. Krebsforsch. 67, 127 - 134 (1965)
- 28 Deichmann, G.H., Klucharewa, T.E.
Immunological Determinants of Oncogenesis in Hamsters Infected
With SV 40 Virus
Virology 24, 131 - 137 (1964)
- 29 Edwards, J.M.
Melanoma and Skin Cancer. Proceedings of the International
Cancer Conference, Sydney, 13th and 17th March 1972,
Ed. W.H. McCarthy, UICC and Australian Cancer Society
- 30 Epstein, E.
Effect of Biopsy on the Prognosis of Melanoma
J. Surg. Oncol. 3, 251 (1971)
- 31 Feinendegen, L.E.
Zelluläre Aspekte der Strahlensensibilisierung
Strahlentherapie 143, 257 - 267 (1972)
- 32 Fortner, J.G., Allen, A.G.
Hitherto Unreported Malignant Melanomas in the Syrian Hamster,
An Experimental Counterpart of the Malignant Melanomas of Humans
Cancer Research 21, 627 - 635 (1958)
- 33 Franke, H.D.
Die Anwendung strahlensensibilisierender Substanzen in der
Strahlentherapie
Strahlentherapie 143, 296 - 317 (1972)

- 34 Gartmann, H.
Melanosis circumscripta problastomatosa
Derm. Wschr. 148, 499 (1963)
- 35 Haneke, E., Wohlrab, W. Peker, J.
Über die Eignung von Transplantationsbedingungen des Hamster-
melanoms A Mel 3 zur Beurteilung von Einflüssen auf das Tumor-
wachstum
Dermatologica 143, 160 - 165 (1971)
- 36 Hagen, U.
Molekulare Grundlagen der Strahlensensibilisierung
Strahlentherapie 143, 237 - 243 (1972)
- 37 Hardmeier, Th.
Das maligne Melanom: Histologische Befunde und deren Bedeutung
für die Prognosestellung
Schweiz. med. Wschr. 100, 967 - 971 (1970)
- 38 Hellriegel, W.
Das klinische Bild und die Heilungsaussichten des malignen Me-
lanoms
Strahlentherapie 111, 510 - 524 (1960)
- 39 Herzberg, J.J.
Neue morphologische Aspekte des malignen Melanoms
Arch. klin. exp. Derm. 215, 287 - 306 (1962)
- 40 Jüngling, O.
Ergebnisse der Strahlenforschung
G. Thieme, Stuttgart 1931
- 41 Keining, E., Braun - Falco, O.
Dermatologie und Venerologie 678 - 681
Lehmann, München 1961
- 42 Klug, H., Thormann, Th.
Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am malignen
Melanom des Menschen und des Goldhamsters
Derm. Wschr. 155, 81 - 98 (1969)
- 43 Koch, R., Schmutz, F.H.
Hämatologische und toxikologische Untersuchungen bei simultaner
Anwendung von Röntgenstrahlen und Bayer E 39 sol.
Strahlentherapie 125, 371 - 382 (1964)
- 44 Korting, G.W.
Die Therapie des Melanoms
Dtsch. med. Wschr. 91, 501 - 505 (1971)

- 45 Lerman, L.S.
Structural Considerations in the Interaction of DNA and
Acridines
J. Molec. Biol. 3, 18 - 20 (1961)
- 46 --
The Structure of the DNA - Acridine Complex
Proc. Nat. Acad. Sci. 49, 94 - 102 (1963)
- 47 Mc Govern, V.J.
Malignant Melanoma - Clinical and Histological Diagnosis
New York, London, Sydney, Toronto - Wiley 1976
- 48 Miescher, G.
Melanom
In: Jadasson, J., Handbuch der Haut- und Geschlechtskrank-
heiten, 1005 - 1135
Springer, Berlin 1933
- 49 --
Oncologica 13, 164 (1960)
- 50 Miescher, G.
Behandlung der malignen Melanome der Haut mit Einschluß der
melanotischen Präkanzerose
Sonderband Strahlentherapie 46, 25 - 35 (1960)
- 51 Mishima, Y.
Melanotic Tumors - The Ultrastructure of Normal and Abnormal Skin
A.S. Zelikson, Ed. 388 - 424
Philadelphia, Lea + Febinger (1967)
- 52 -, Matunaka, M.
Effect of Bleomycin on Benign and Malignant Cutaneous Tumors
Acta Dermatovener, 52, 211 - 215 (1972)
- 53 Mitchell, J.S.
Studies in Radiotherapeutics
Blackwell Scientific Public, Oxford (1960)
- 54 Nathanson, L.T., Hall, T.C., Vowter, G.F., Farber, S.
Melanoma as a Medical Problem
Archives of Internal Medicine 119, 479 - 492 (1967)
- 55 Nitze, H.R., Ganzer, U., Vosteen, K.H.
Die Strahlenbehandlung maligner Tumoren nach Synchronisation des
Zellteilungsrythmus
Strahlentherapie 143, 329 - 340 (1972)

- 56 Oberhausen - Braun, H.
Tierexperimentelle Befunde zur Strahlensensibilisierung bei
Teil- und Ganzkörperbestrahlung
Strahlentherapie 143, 296 - 317 (1972)
- 57 Ott, F.
Zur Diagnose des malignen Melanoms
Schweiz. med. Wschr. 103, 1421 (1973)
- 58 Parsons, P.G., Gross, P., Pope, J.H.
Int. J. Cancer 13, 606 - 618 (1974)
- 59 Peters, K.W., Peters, R.
Strahlensensibilisierung von Zellen in vitro
Strahlentherapie 143, 273 - 277 (1972)
- 60 Pohlitz, W.
Sensibilisierung in Strahlenbiologie und Strahlentherapie
Strahlentherapie 143, 348 - 352 (1972)
- 61 Prévot jr., H., Linden, W.A., Wehbe, S., Lüggers, S.
In - vitro - Untersuchungen an Säugetierzellen über die Strahlenschutz-
wirkung von Melanin
Strahlentherapie 140, 752 - 754 (1970)
- 62 -, Schneider, C., Linden, W.A., Brunkhorst, H., Lüggers, S.
Erhöhung der Strahlensensibilität von Säugetierzellen durch
Synchronisation ihres Teilungszyklus durch fraktionierte Röntgen-
bestrahlung
Strahlentherapie 141, 446 - 450 (1971)
- 63 Primack, A., Dhru, D., Kiryabwire, J.W.M., Vogel, C.L.
Clinical Trials of Combination Chemotherapy with BCNU
in Uganda
Cancer 31, 337 - 341 (1972)
- 64 Pringle, J.H.
Edinb. Med. J. 21, 496 (1908)
- 65 Ravaut, P., Ferrand, M.
Bull. soc. Franc. Derm. Syph. 34, 96 (1927)
- 66 Riley, V.
Some Enzymatic and Metabolic Characteristics of Malignant
Pigmented Tissues
(W. Montagna, F. Hu: Advances in Biology of Skin, Vol. 8:
The Pigmentary System, 581 - 619)
Oxford, Pergamon Press 1967
- 67 Rohde, B., Wiskemann, A.
Über das Wachstum röntgenbestrahlter Melanomalignome in der
Gewebekultur und im Transplantationsversuch
Strahlentherapie 123, 534 - 544 (1964)

- 68 Rosenberg, J.C., Assimacopoulos, C., Lober, P.,
Rosenberg, S.A., Zimmermann, B.
The Malignant Melanoma of Hamsters: Pathologic Characteristics
of the Transplanted Melanotic and Amelanotic Tumor
Cancer Re. 21, 627 - 635 (1961)
- 69 Rushforth, G.F.
Brit. J. Surg. 58/6, 451 - 453 (1971)
- 70 Salamon, T., Storck, H.
Über die Sensibilität des Hamstermelanoms gegenüber Röntgen,
Zytostatika und immunologischen Einflüssen
Arch. klin. exp. Derm. 216, 161 (1963)
- 71 Savlov, E.D., Hall, T.C., Oberfield, R.A.
Intra - Arterial Therapy of Melanoma With Dimethyl Thiazeno
Imidazole Carboxamide
Cancer 28/IV, 1161 - 1164 (1971)
- 72 Scherer, E., Magnus, L., Makoski, H.B.
Neue radiologisch - chirurgische Konzepte bei der Primärbehand-
lung des Melanomalignoms
Fortschr. Röntgenstr. 118/II, 174 - 178 (1973)
- 73 Schneider, R.
Probleme bei simultaner Kombinationstherapie mit Zytostatika
und ionisierenden Strahlen
Strahlentherapie 134, 21 - 30 (1967)
- 74 Sinner, W.
Beitrag zur Klinik und Therapie der malignen Melanome
Strahlentherapie 117, 18 - 62 (1962)
- 75 Stäubli, W., Loustalot, P..
Electron Microscopy of Transplantable Melanotic and Amelanotic
Hamster Melanomas
Cancer Res. 22, 84 - 88 (1962)
- 76 Stöß, G.
Dissertation
Univ. München 1977
- 77 Storck, H.
Zur Therapie der Melanomalignome
Schweizer Med. Wschr. 98/II, 1552 - 1562 (1968)
- 78 --
Zur Klinik und Therapie des malignen Melanoms
Der Hautarzt 21, 187 (1970)

- 79 Streffer, C., Schweiger, K.
Zur biochemischen Wirkung einiger strahlensensibilisierender
Substanzen
Strahlentherapie 143, 244 - 254 (1972)
- 80 Sylvén, B.
Acta Radiologica 32, 33 (1949)
- 81 Teske, H.J.
Zur Strahlenbehandlung der malignen Melanome
Strahlentherapie 121, 495 - 511 (1963)
- 82 Trott, K.R.
Einige strahlenbiologische Aspekte der "Synchronisations-
therapie in der Tumorbehandlung"
Strahlentherapie 142, 568 - 574 (1971)
- 83, Wiskemann, A., Rohde, B., Herzberg, J.
Über das Wachstum röntgenbestrahlter Melanomalignome in der
Gewegekultur und im Transplantationsversuch
Strahlentherapie 125, 5-9 (1964)
- 84 Wohlrab, W., Peker, J.
Über die Eignung von Transplantationsbedingungen des A Mel 3
Hamster-Melanoms zur Beurteilung von Einflüssen auf das Tumor-
wachstum
Dermatologica 143, 160 - 165 (1971)
- 85 Wolff, H.H., Balda, B.-R., Birkmayer, G.D., Braun-Falco, O.
Zur Ultrastruktur des Hamstermelanoms A Mel 3 von Fortner
Arch. Derm. Forsch. 240, 192 - 203 (1971)

Herrn Professor Dr. Balda danke ich für die Über-
lassung des Themas, sowie für die freundliche
Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ferner gilt mein Dank den Angestellten der
Dermatologischen Klinik der Universität, besonders
Fräulein Schnöder, die mich beim experimentellen
Teil der Arbeit mit Rat und Tat unterstützten.

L e b e n s l a u f

Am 31.5.1949 wurde ich als drittes Kind des Gastwirts Max Wolf und seiner Ehefrau Käthe, geborene Steinkirchner, in Oberammergau geboren.

Von 1955 bis 1960 besuchte ich dort die Volksschule. Dann wechselte ich in das St.-Marien-Gymnasium nach Kaufbeuren über, das ich 1969 nach bestandenem Abitur verließ.

Mit dem Wintersemester 1969/70 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München. Nach dem Sommersemester 1970 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab, nach dem Wintersemester 1971/72 das Physikum. Im Januar 1975 beendete ich das Staatsexamen und erhielt im Februar des gleichen Jahres die Approbation.

Vom 18.3. bis 30.6.75 war ich als Assistentin bei Frau Dr. Stenzel, Germering, tätig. Seither leiste ich meine Assistentenzeit bei Herrn Dr. Zedelmaier in Schongau ab.

